

Investigating the Effect of Neuro-Motor Rehabilitation on Myelin Regeneration after Spinal Cord Injury Model in Rats

Faezeh Yaghoubi^{1,2}, Bitā Vazir³, Saeed Hesaraki⁴, Ameneh Omid⁵, MahmoudReza Hadjighassem⁶, Maryam Jafarian^{6*}

¹Department of Veterinary, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

³Department of Physiology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁵Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁶Brain and Spinal Cord Injury Research Center, Neuroscience Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 5 Sep 2023

Revised: 2 Jan 2024

Accepted: 15 Jan 2024

ABSTRACT

Introduction: Spinal cord injury (SCI) is a critical neurological condition that may impair motor, sensory, and autonomic functions. Spinal cord injury severely affects the independence and quality of life of the injured person and his family. At the cellular level, inflammation, impaired axonal regeneration, and neuronal death are responsible for complications after SCI. Due to the high mortality rate and complications caused by SCI, there is a need for effective treatment. Despite the advances made in SCI repair, the optimal treatment for complete recovery after SCI has not yet been found. The goal of therapeutic interventions in spinal cord injury is to prevent the further expansion of the injury and repair the damaged tissue. At the functional level, existing treatments focus on techniques that aim to restore some degree of walking or motor activity. One of these techniques is learning to walk on a treadmill. **Materials and methods:** In this study, we have investigated the impact of treadmill training on the restoration of motor ability, as well as the myelination and repair of neurons in rats with a contusion model. The assessment involved two groups: the sham group (experiencing a lesion without movement rehabilitation) and the treatment group (undergoing a lesion followed by movement rehabilitation). **Results:** Motor rehabilitation with a treadmill improved the motor performance of animals compared to the sham group. However, it did not affect sensory function. The motor rehabilitation group showed a significant increase in the sucrose test compared to the sham group. The size of the spinal cord lesion cavity and nerve tissue repair showed a significant decrease in the rehabilitation group compared to the sham group. **Conclusion:** The results of this study showed that motor neurorehabilitation contributes to the restoration and enhancement of cell function, affecting not only functional and behavioral functions but also the tissue and cellular recovery.

Keywords:

1. Exercise Test
2. Rehabilitation
3. Neuroprotection
4. Spinal Cord Injuries

*Corresponding Author: Maryam Jafarian

Email: jafarian.m34@gmail.com

بررسی اثر باز توانی عصبی - حرکتی بر بازسازی میلین ها بعد از مدل ضایعه نخاعی در موش های صحرایی

فائزه یعقوبی^{۱،۲}، بیتا وزیر^۲، سعید حصارکی^۴، آمنه امیدی^۵، محمود رضا حاجی قاسم^۶، مریم جعفریان^{۶*}^۱گروه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۲مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران^۳گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۴گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۵گروه علوم تشریحی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران^۶مرکز تحقیقات ضایعات مغزی و نخاعی، موسسه علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۲۵ دی ۱۴۰۲

اصلاحیه: ۱۲ دی ۱۴۰۲

دریافت: ۱۴ شهریور ۱۴۰۲

چکیده

مقدمه: آسیب طناب نخاعی (SCI) یک وضعیت عصبی بحرانی است که ممکن است عملکردهای حرکتی، حسی و خودمختار را مختل کند. آسیب نخاعی اختلال شدیدی بر استقلال و کیفیت زندگی فرد آسیب دیده و خانواده ایجاد می کند. در سطح سلولی، التهاب، اختلال در بازسازی آکسون ها و مرگ نورون ها مسئول عوارض ایجاد شده پس از SCI هستند. با توجه به میزان بالای مرگ و میر و عوارض ناشی از SCI، نیاز به درمان موثر وجود دارد. علیرغم پیشرفت هایی که در ترمیم SCI صورت گرفته، درمان بهینه برای بهبودی کامل بعد از SCI تاکنون یافت نشده است. هدف از مداخلات درمانی در آسیب نخاعی جلوگیری از گسترش بیشتر آسیب و بازسازی بافت آسیب دیده است. در سطح عملکردی درمان های موجود بر تکنیک هایی تمرکز می کنند که هدف آن ها بازگرداندن درجاتی از راه رفتن یا فعالیت حرکتی است. یکی از این تکنیک ها، آموزش راه رفتن بر روی تردمیل است. **مواد و روش ها:** در این مطالعه به بررسی تاثیر تمرین با تردمیل در بازیابی توانایی حرکتی و همچنین میلین سازی و ترمیم نورون ها در موش های صحرایی مدل له شدگی پرداخته ایم. مطالعه در دو گروه شم (ایجاد ضایعه بدون باز توانی حرکتی) و گروه درمان (ایجاد ضایعه و سپس باز توانی حرکتی) مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته ها:** باز توانی حرکتی با تردمیل باعث بهبود عملکرد حرکتی حیوانات نسبت به گروه شم شد. اما در بهبود عملکرد حسی تاثیر نداشت. گروه باز توانی حرکتی افزایش معنی داری در آزمایش ساکاروز نسبت به گروه شم نشان داد. اندازه حفره ضایعه نخاعی و ترمیم بافت عصبی در گروه باز توانی نسبت به گروه شم کاهش معنی داری نشان داد. **نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد باز توانی عصبی - حرکتی به ترمیم و تقویت عملکرد سلولی کمک می کند و نه تنها در سطح عملکردی و رفتاری بلکه به ترمیم بافتی و سلولی تاثیر می گذارد.

واژه های کلیدی:

- ۱- تست ورزشی
- ۲- باز توانی
- ۳- محافظت عصبی
- ۴- آسیب های طناب نخاعی

*نویسنده مسئول: مریم جعفریان

پست الکترونیک: jafarian.m34@gmail.com

مقدمه

آسیب طناب نخاعی (SCI) اتصال ساختاری و عملکردی بین مرکز بالاتر و نخاع را مختل می‌کند و منجر به اختلالات عصبی ویرانگر و دائمی می‌شود و در نتیجه اختلال عملکرد حرکتی، حسی و اتونومیک شدید همراه با انواع عوارض را به همراه دارد (۱). سالانه صدها هزار بیمار جدید در سراسر جهان از SCI رنج می‌برند و نود درصد این آسیب‌های طناب نخاعی ناشی از حوادث آسیب‌زا از جمله تصادفات رانندگی، افتادن، آسیب‌های ورزشی، خشونت و غیره است (۲). آسیب نخاعی نه تنها کیفیت زندگی فرد و طول عمر بیماران را به طور جدی تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه منجر به اختلالات روانی و عاطفی و ترس شدید اجتماعی می‌شود که تأثیرات فراوان بر زندگی بیماران و خانواده‌هایشان و همچنین بار اقتصادی سنگینی بر خانواده و همچنین سیستم مراقبت‌های بهداشتی اجتماعی دارد (۳).

پاتوفیزیولوژی SCI شامل آسیب اولیه و آسیب ثانویه است. آسیب اولیه توسط ضربه حاد مکانیکی ایجاد می‌شود و منجر به اختلال عروقی، پارگی سد خونی-نخاعی، مرگ سلولی (نورون‌ها، سلول‌های گلیا و سلول‌های اندوتلیال) و وقفه در مسیرهای فیبر عصبی در نخاع می‌شود. آسیب ثانویه به رویدادهای پاتولوژیک متوالی ناشی از آسیب اولیه مانند: خونریزی، سمیت تحریکی، التهاب عصبی، دمیالیناسیون، آستروگلیوزیس و بازسازی ماتریکس خارج سلولی (ECM) اشاره دارد که آسیب بافتی را تشدید می‌کند و انعطاف پذیری عصبی را به خطر می‌اندازد (۴). درمان بالینی فعلی برای SCI عمدتاً شامل رفع فشار زود هنگام جراحی و تثبیت، افزایش پرفیوژن نخاعی، تجویز داخل وریدی کورتیکواستروئیدها با دوز بالا، درمان ضد التهابی در فاز حاد و آموزش توانبخشی عصبی حرکتی در طول فاز مزمن است. با توجه به پاتوفیزیولوژی پیچیده SCI درمان‌های فردی که بر روی یک جنبه یا فرآیند خاص عمل می‌کنند برای ایجاد بازسازی عصبی و بهبود عملکردی پس از SCI ناکافی هستند (۵).

مطالعات مختلف پیش بالینی و بالینی نشان داده است که تمرین‌های ورزشی باعث بهبود عملکرد پس از SCI می‌شود. ورزش نه تنها به طور مستقیم ماهیچه‌های فلج را تقویت می‌کند و باعث بهبود عملکرد حرکتی می‌شود، بلکه باعث بازسازی مغز، بهبود ریز محیط ستون فقرات و بهبود عملکرد می‌شود (۶). تحقیقات فعلی در مورد بازبانی عملکرد حرکتی در بیماران SCI بر بازیابی اتصالات از دست رفته یا استفاده از ویژگی‌های تطبیقی نخاع برای آموزش راه رفتن بیمار تمرکز دارند. علاوه بر این، ورزش می‌تواند از طریق ایجاد تغییرات

سیستمیک مانند: بهبود گردش خون، تنظیم عصبی غد درون ریز و کاهش گرفتگی عضلانی، بر بازسازی عملکرد مغز پس از آسیب به بافت عصبی تأثیر بگذارد (۷).

هدف از مطالعه بنیادی حاضر بررسی بافت شناسی و رفتاری بعد از ایجاد مدل موشی له شدگی برای تعیین میلین سازی و ترمیم بافت عصبی بعد از آسیب نخاعی است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بالغ نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با محدوده وزنی ۲۵۰ الی ۲۸۰ گرم استفاده شد. تمامی حیوانات در محل مخصوص نگهداری حیوانات در قفس‌های مخصوص به تعداد چهارتایی تحت شرایط استاندارد نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای 22 ± 2 بدون هیچ‌گونه آلودگی صوتی و با رطوبت هوای بین ۴۰ تا ۶۰ درصد و با دسترسی نامحدود به آب و غذا نگهداری می‌شوند. حیوانات یک هفته قبل از انجام جراحی به‌منظور ایجاد مدل‌سازی به محل مخصوص نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران در بیمارستان امام خمینی منتقل شدند؛ این کار به‌منظور سازش‌پذیری حیوانات با محیط آزمایشگاه انجام گرفت. بعد از ۴۸ ساعت سازگاری با محیط حیوانات به طور تصادفی در گروه‌های ۱۰ تایی برای ایجاد مدل ضایعه نخاعی انتخاب شدند و پس از جراحی و ایجاد مدل له‌شدگی (کوفتگی) به‌منظور ایجاد شرایط مناسب برای راحتی حیوانات در هر قفس فقط دو حیوان نگهداری شد. از هر حیوان فقط یک‌بار برای انجام آزمایش استفاده می‌شد. ایجاد مدل ضایعه نخاعی و آزمایش‌های رفتاری در محدوده زمانی ۸ صبح الی ۱۲ ظهر انجام می‌گرفت. تمامی آزمایش‌ها بر روی حیوانات بر مبنای دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس ضوابط کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران صورت گرفت.

به‌منظور ایجاد مدل له‌شدگی (کوفتگی) طناب نخاعی ابتدا حیوان توسط تزریق ترکیبی داخل صفاقی کتامین (۱۰ درصد شرکت برمر فارما آلمان) با دوز (۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲ درصد شرکت کلا بلژیک) با دوز (۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شد. پس از اطمینان از بی‌هوش شدن حیوان، موهای منطقه پشت حیوان به طور کامل تراشیده شد تا از ورود آن‌ها به داخل بافت و ایجاد عفونت‌های بعد از جراحی و زخم شود. سپس با لمس مهره متصل به آخرین دنده قفسه سینه، مهره سینه‌ای شماره ۱۳ را مشخص کرده و سه مهره دیگر بالا آمده تا به مهره سینه‌ای شماره ۱۰ که محل دلخواه برای ایجاد ضایعه است، رسیدیم. پس از آن توسط تیغ جراحی تیز شماره ۱۰ (برند ترینون آلمان)

¹ Spinal cord injury² Extracellular matrix

روز هفدهم پس از جراحی با افزایش سرعت به ۸ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تمرین کردند و در روز هجدهم پس از جراحی با سرعت ۸ متر بر دقیقه و با افزایش زمان به ۱۵ دقیقه تمرین تردمیل را ادامه دادند و از هفته سوم (روز بیست و یکم پس از جراحی) حیوانات با سرعت ۸ متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در ۵ روز هر هفته را تا آخرین روز مطالعه (روز پنجاه و هشتم پس از جراحی) تمرین تردمیل را داشتند.

بررسی تردمیل بر وضعیت وزن حیوان

به منظور بررسی وضعیت جسمانی حیوان پس از جراحی، برای ارزیابی تأثیرات بازتوانی عصبی با تمرین تردمیل در میزان تغییرات وزنی حیوان به صورت هفتگی وزن حیوان با ترازو گرفته می‌شد. در این بررسی ابتدا حیوان قبل از جراحی وزن شده و سپس در روز سوم پس از جراحی وزن حیوان گرفته شد و در ادامه به صورت هفتگی تا آخر مطالعه ادامه داشت.

بررسی رفتاری (عملکرد حرکتی) با روش BBB

آزمون حرکتی باسو، بیتی، برسنهان (BBB) برگرفته شده از حرف اول هر سه محقق است که این روش را طراحی کرده‌اند. در این مطالعه از آزمون BBB برای ارزیابی میزان آسیب طناب نخاعی و تشخیص میزان بهبود عملکرد حرکتی استفاده شد. این روش علاوه بر سنجش میزان بهبود عملکرد حرکتی حیوان بلکه میزان سلامت مسیر های شبکه دهلیزی- نخاعی (رتیکولو اسپاینال و سستیولار) را نیز می‌تواند بسنجد.

ارزیابی حرکت حیوان طی هفته‌های درمانی بعد از جراحی، به صورت هفتگی به مدت ۵ دقیقه سنجیده می‌شد. در این روش به حیوان اجازه داده می‌شد تا آزادانه حرکت کند و بر اساس مقیاس BBB نمره گذاری شوند. دو محقق به صورت جداگانه و کاملاً کور حرکات اندام حرکتی خلفی حیوان را مشاهده می‌کردند و در مقیاس BBB به حیوان نمرات از صفر تا ۲۱ دادند. نمره صفر نشان فلج کامل و نمره ۲۱ نشان دهنده راه رفتن طبیعی است. نمره نهایی هر حیوان میانگین نمرات هر دو محقق گزارش شد. عوامل مهم برای بررسی اندام حرکتی خلفی حیوان شامل وضعیت پنجه پا، حرکت مفصل و استقامت تنه در نظر گرفته شد. نمره صفر تا ۷ مربوط به ارزیابی وضعیت مفصل ران، زانو و مچ پا است. نمره ۸ تا ۱۳ مربوط به ارزیابی وضعیت پنجه پا و هماهنگی حرکت آن‌ها است و نمره ۱۴ تا ۲۱ مربوط به ارزیابی سرعت پایداری تنه، موقعیت دم و وضعیت پنجه پا بود. نمره ۲۱ مربوط به عملکردی مشابه حیوان‌های سالم است (۹). در این مطالعه اولین بررسی عملکرد حرکتی در ۲۴ ساعت پس از جراحی انجام می‌شد و

پوست را در محل مناسب به اندازه ۳ سانتی متر باز کردیم و بافت همبند و عضلات دو طرف ستون مهره‌ها را به صورت موازی کنار زدیم و با رترکتور ثابت نگه داشتیم. خار نخاعی مهره سینه‌ای ۱۰ را توسط روتو برداشتیم و با استفاده از مته دندانپزشکی، استخوان روی نخاع را تراشیدیم و توسط قیچی فنری چشم پزشکی استخوان را از روی نخاع برداشتیم تا اندازه وزنه دستگاه ایمپکتور، نخاع قابل رویت گردید. در مرحله بعد پس از ثابت کردن مهره‌های سینه‌ای شماره ۹ و ۱۱ توسط گیره‌های نگهدارنده خار نخاعی (خارهای نخاعی قبل و بعد از محل ضایعه) و اطمینان حاصل از قرار گرفتن ضربه زننده بر روی نخاع باز شده، وزنه ۱۰ گرمی را از ارتفاع ۲۵ میلی متر رها کرده و ۱ الی ۳ دقیقه صبر کردیم تا مدل له شدگی (کوفتگی) نخاع ایجاد شد. در آخر حیوان روی صفحه گرم با دمای ۳۷ درجه قرار گرفت تا به هوش آمد. از فردای روز جراحی، به مدت ۷ روز تزریق آنتی بیوتیک سفازولین (۱ گرمی شرکت آفاشیمی ایران) با دوز (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی و تزریق سرم طبیعی سالین (۰/۹ درصد) به مدت ۷ روز به میزان ۱ میلی لیتر به صورت زیر جلدی انجام شد. تخلیه مثانه هر روز تا زمانی که حیوان خودش توانایی تخلیه مثانه‌اش را به دست بیاورد.

گروه‌های مطالعه

این مطالعه در دو گروه که شامل گروه آسیب طناب نخاعی (گروه شم) و گروه آسیب طناب نخاعی به همراه بازتوانی عصبی با تردمیل از ۲ هفته بعد از ایجاد ضایعه (گروه درمانی) را شامل می‌شد، صورت گرفت. در این بخش از مطالعه برای گروه‌های درمانی که بازتوانی عصبی با دستگاه تردمیل را داشتند، موش‌ها یک هفته قبل از جراحی به منظور آشنایی و سازگاری با دستگاه تردمیل و کاهش استرس آن‌ها نسبت به محیط، تمرین را با سرعت ۸ متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در ۵ روز هفته انجام دادند. حیوانات پس از جراحی و ایجاد مدل آسیب طناب نخاعی از هفته دوم به بعد تمرین تردمیل را آغاز کردند. به منظور جلوگیری از آسیب فیزیکی حیوان به دلیل کم توانی در حرکت اندام‌های خلفی خود، تمرین تردمیل با کمترین سرعت و زمان در دو مرحله آغاز شد و با افزایش تدریجی سرعت و زمان از هفته سوم به بعد با سرعت و زمان دلخواه تمرین را تا روز آخر دوره مطالعه ادامه دادند (۸). حیوانات در روز چهاردهم و پانزدهم پس از جراحی در دو مرحله با سرعت ۵ متر بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه تمرین تردمیل داشتند که فاصله زمانی بین هر مرحله از تمرین حدود ۱ الی ۲ دقیقه بود، سپس در روز شانزدهم پس از جراحی موش‌ها با سرعت ۵ متر بر دقیقه در یک مرحله به مدت ۱۰ دقیقه تمرین داشتند و در

³ Basso, Beattie, Bresnahan

سپس به مدت ۲ ساعت در دو طرف قفس موش‌ها قرار دادیم. این آزمایش به صورت هفتگی در یک روز معین از هفته دوم پس از جراحی شروع می‌شد و تا آخر طول درمان ادامه داشت. در هر قفس ۲ موش از یک گروه قرار داده می‌شد و تا پایان مطالعه با هم در یک قفس قرار داشتند. آزمایش ترجیحی ساکاروز با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد (۱۳).

ترجیح ساکارز (درصد) = میزان مصرف ساکارز (میلی‌لیتر) / (میزان مصرف ساکارز + میزان مصرف آب) (میلی‌لیتر) $\times 100$

ارزیابی بافت‌شناسی

در روزهای مشخص‌شده، تعدادی از موش‌ها برای ارزیابی بافت‌شناسی از هر گروه انتخاب و بی‌هوش شدند. ابتدا قفسه سینه حیوان را به‌منظور پرفیوژن قلب باز کردیم و حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول طبیعی سالین ۰/۹ درصد به بطن چپ پرفیوژن شد تا تمامی خون موجود در عروق از دهلیز راست خارج شود. این کار را آن‌قدر ادامه می‌دادیم تا بکد تغییر رنگ از قرمز به رنگ سبز-آبی بدهد. سپس حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر تزریق پارافرمالدهید ۴ درصد از طریق بطن چپ به‌منظور تثبیت اولیه انجام شد. در آخر قطعه آسیب‌دیده نخاع از طناب نخاعی برداشته شد و یک شبانه‌روز در محلول فرمالین ۱۰ درصد در دمای ۴ درجه انکوبه شد. نخاع جدا شده به‌منظور آنالیزهای ساختاری و بافتی مورد استفاده قرار گرفت (۱۴). برش‌های بافت‌شناسی عرضی به ضخامت ۷ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه شد و برای مطالعات ریخت‌شناسی رنگ‌آمیزی شدند.

بررسی اندازه حفره ضایعه

بعد از مدت‌زمان درمانی، اندازه حفره ضایعه در گروه‌های آزمایشی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) بررسی شد. نام این روش رنگ‌آمیزی در واقع برگرفته از نام موادی است که برای انجام این روش رنگ‌آمیزی استفاده می‌شود. در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین هسته سلول و سیتوپلاسم آن با دورنگ متفاوت از یکدیگر متمایز شده و نمایش داده می‌شود. هماتوکسیلین ریبوزوم‌ها، کروماتین درون هسته و سایر ساختارها را به‌صورت رنگ آبی-بنفش تیره نشان می‌دهد و ائوزین سیتوپلاسم، دیواره سلولی، کلاژن، بافت همبند و دیگر ساختارهایی را که سلول را احاطه و از آن حمایت می‌کنند را به رنگ صورتی - قرمز نشان می‌دهد (۱۵).

بررسی میلین‌سازی

بعد از مدت‌زمان درمانی، میزان ترمیم میلین در نخاع

درنوبت بعد روز سوم و پس از آن حیوانات به‌صورت هفتگی تا پایان دوره درمان هر هفته ارزیابی حرکتی می‌شدند.

بررسی میزان حساسیت حرارتی با صفحه داغ

دستگاه‌های پلیت^۴ صفحه‌ای است که به کمک جریان برق داغ می‌شود که دمای آن قابل تنظیم و کنترل است و برای بررسی میزان حساسیت درد به محرک حرارتی و بررسی میزان شدت آسیب در محیط آزمایشگاهی استفاده می‌شود. موش‌ها قبل از انجام آزمایش به مدت نیم ساعت زودتر به محیط آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا به محیط عادت کنند. حیوانات یک هفته قبل از جراحی یک‌بار این آزمایش را انجام دادند و بعد از جراحی و ایجاد مدل آسیب طناب نخاعی هفته‌ای یک‌بار در روز معین شده در کل مدت درمانی برای انجام آزمایش‌های پلیت روی صفحه فلزی داغ دستگاه که دما حدود 52 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود، قرار داده می‌شدند. واکنش حیوان نسبت به محرک گرمایی بر اساس میزان تأخیر در پاسخ به آن محرک که شامل لیسیدن پنجه پا، بلندکردن پا، لرزیدن، صدا و پریدن حیوان بررسی می‌گردید که هر چقدر میزان تأخیر برای واکنش نشان‌دادن حیوان به محرک بیشتر و طولانی‌تر بود به‌عنوان آسیب شدیدتر تلقی می‌گردید و واکنش مثبت در نظر گرفته می‌شد، اگر حیوان جهت دورشدن از محرک گرمایی پاسخی نشان نمی‌داد نتیجه واکنش منفی ثبت می‌شد. حداکثر زمان در نظر گرفته شده برای سطح تحمل موش‌ها بر روی صفحه داغ به مدت ۳۰ ثانیه بود. این زمان برای موش‌هایی که به محرک گرمایی پاسخ نمی‌دادن نیز اعمال می‌شد تا از سوختگی پوست و آسیب‌دیدن حیوان جلوگیری شود. پاسخ‌هایی که در اثر حرکت کردن و سایر رفتارهای طبیعی حیوان بود به‌عنوان واکنش در نظر گرفته نمی‌شد. این آزمایش دو بار با فاصله زمانی ۳۰ دقیقه انجام می‌گرفت (۱۱، ۱۰).

بررسی میزان افسردگی و استرس با آزمون ترجیحی ساکاروز

استرس یک فرایند فعال در حفظ سازگاری فیزیولوژی طبیعی بدن که تحت تأثیر عوامل استرس‌زا می‌باشد، است و بر اساس هماهنگی فعالیت تمام سیستم‌های بدن است که با توجه به افزایش میزان استرس، مصرف ساکاروز نیز افزایش می‌یابد و آسیب‌پذیری در برابر عوامل دیگری که با استرس در ارتباط است نیز افزایش می‌یابد (۱۲). آزمایش ترجیح ساکاروز^۵ (SPT) را به‌منظور کاهش اثرات مخدوش‌کننده بالقوه در اختلال عملکرد حرکتی انجام دادیم. ابتدا دو بطری پرشده که یکی از ۱۵۰ میلی‌لیتر آب و دیگری ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول ساکارز (۲ درصد) را آماده کردیم و

^۴ Hot-Plate

^۵ Sucrose Preference Test

^۶ Hematoxylin and Eosin

همان‌طور که در تصویر ۱ مشاهده می‌شود، قبل از آسیب طناب نخاعی، موش‌های هر دو گروه بالاترین رتبه حرکتی (رتبه ۲۱) را از خود نشان دادند و از نظر حرکتی سالم بودند. حیواناتی که مدل لشدگی را دریافت کرده بودند در ۲۴ ساعت پس از جراحی و آسیب طناب نخاعی کاهش قابل‌ملاحظه‌ای را در اعمال حرکتی اندام‌های خلفی از خود نشان دادند تا جایی که فلج کامل پیدا کرده و هیچ حرکتی در آن‌ها مشاهده نشد و رتبه BBB آن‌ها صفر بود. در روزهای بعد رتبه BBB هر دو گروه افزایش یافت. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها در این بخش مطالعه نشان داد که موش‌های گروه درمانی با تردمیل (SCI+TM) از یک هفته بعد از آسیب طناب نخاعی افزایش پیش‌رونده‌ای را در مهارت حرکت اندام خلفی در مقایسه با گروه آسیب طناب نخاعی (SCI) از خود نشان دادند (جدول ۱، تصویر ۱). در گروه SCI بهبود عملکرد حرکتی با روند کند مشاهده می‌شود. در مقایسه گروه درمانی SCI+TM با گروه SCI از روز ۲۸ پس از جراحی تفاوت معنی‌داری در پیشرفت حرکت اندام‌های خلفی مشاهده شد ($P < 0.01$)

نتایج بررسی میزان حساسیت حرارتی با صفحه داغ

منظور بررسی اثر ضد دردی با آزمون هات پلیت به دنبال آسیب طناب نخاعی در موش‌های آزمایشگاهی بر اساس زمان پاسخ به حرارت در دو گروه SCI و SCI+TM

در گروه‌های آزمایشی توسط رنگ‌آمیزی لوکسال فست بلو^۷ (LFB) ارزیابی شد. ماده سفید نخاع^۸ به ستون‌های پشتی، جانبی و شکمی تقسیم می‌شود که هر کدام شامل مسیرهای آکسونی مربوط به عملکردهای خاصی است. با اندازه‌گیری مساحت کل نخاع و اندازه‌گیری مساحت بخش ماده سفید نخاع سپس با گرفتن تناسب بین مساحت ماده سفید به مساحت کل نخاع، وضعیت سلامت میلین را در گروه‌های مختلف به دست آمد. به این منظور از هر گروه ۴ نمونه به‌صورت تصادفی انتخاب شد و برای کمی‌کردن داده‌ها و به‌دست‌آوردن مساحت از نرم‌افزار ImageJ استفاده شد. سپس آنالیز آماری آن‌ها با استفاده از نسخه ۷ نرم‌افزار Prism از طریق آزمون تی مستقل انجام گرفت. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد و P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

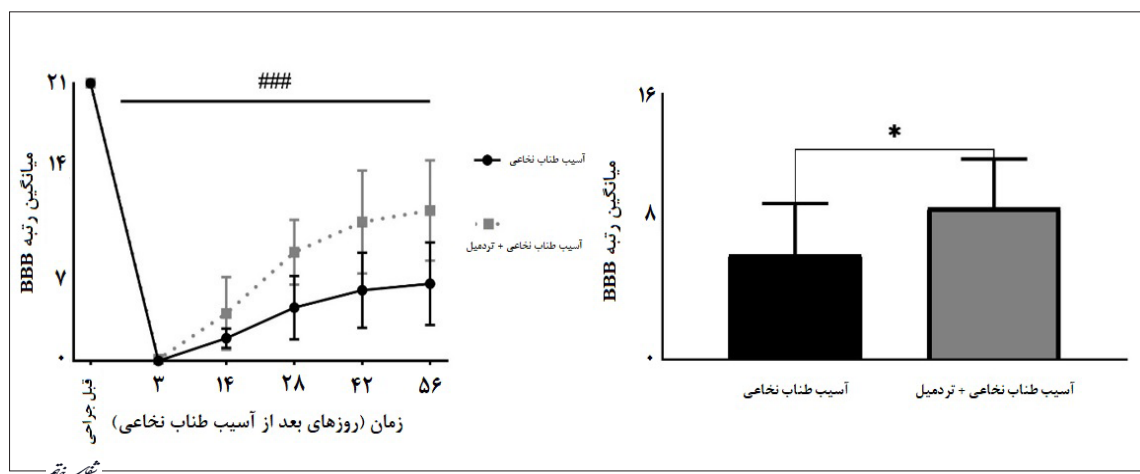
در این مطالعه تمام حیوانات، از نظر اختلالات رفتاری قبل از شروع آزمون سپس ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از ایجاد مدل لشدگی آسیب طناب نخاعی و در ادامه هفته‌ای یک‌بار به مدت ۸ هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعداد نمونه‌ها در آزمون‌های رفتاری ۸ و در تست‌های بافت‌شناسی ۴ سر موش در هر گروه است.

نتایج بررسی رفتاری (عملکرد حرکتی) با روش BBB

جدول ۱- نتایج میانه (صدک ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر بهبود عملکرد اندام حرکتی خلفی موش‌های صحرایی با آزمون BBB در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

BBB		SCI		SCI+TM	
میانگین	۲۵ درصد	۴/۶۹	۱/۲۹	۹/۳۶	۲/۷۳
	۷۵ درصد		۹/۶۳		۱۳/۸
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۶/۳۲ $\pm$ ۳/۰۷		۹/۱۴ $\pm$ ۲/۹۵	

ممنوعه



تصویر ۱- نمودار ارزیابی عملکرد حرکتی با استفاده از آزمون BBB. عملکرد حرکتی پس از آسیب طناب نخاعی به‌صورت بین‌گروهی بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که از نظر میانگین رتبه BBB اختلاف معنی‌داری بین دو گروه SCI و SCI+TM وجود دارد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. تعداد نمونه‌ها برابر با ۸ سر موش در هر گروه است. * نشان‌دهنده اختلاف معنادار با گروه شام می‌باشد. # نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هر گروه در بازه زمانی مختلف است. * نشانگر $P < 0.05$ ، ## نشانگر $P < 0.01$ تفاوت معنی‌داری با گروه SCI می‌باشد. # بیانگر $P < 0.05$ و ## بیانگر $P < 0.01$ می‌باشد.

⁷ Luxol Fast Blue

⁸ White matter

اندازه‌گیری شد و تصویر ۳ نشان‌دهنده تغییرات وزنی می‌باشد. همان‌طور که در جدول نمایش داده شده است در هیچ گروهی تغییرات معنی‌داری بین وزن قبل از جراحی و روز ۵۶ یافت نشد (جدول ۳، تصویر ۳).

نتایج بررسی میزان افسردگی یا استرس با آزمون ترجیحی ساکاروز

در بررسی روند بازتوانی عصبی با تردمیل در میزان استرس و افسردگی پس از آسیب طناب نخاعی در موش‌های آزمایشگاهی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت. تصویر ۴ تفاوت بین دو گروه را در مصرف ساکاروز نشان

تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲، تصویر ۲). تصویر ۲ نشان‌دهنده روند پاسخ‌دهی به محرک گرمایی در دو گروه در بازه‌های زمانی مختلف تا پایان هفته ۸ است. نتایج نشان داد که مدت‌زمان تأخیر در عقب کشیدن پا به محرک حرارتی در مقایسه بین دو گروه یک روز قبل از آسیب و ۵۶ روز بعد از آسیب اختلاف معنی‌داری ندارد.

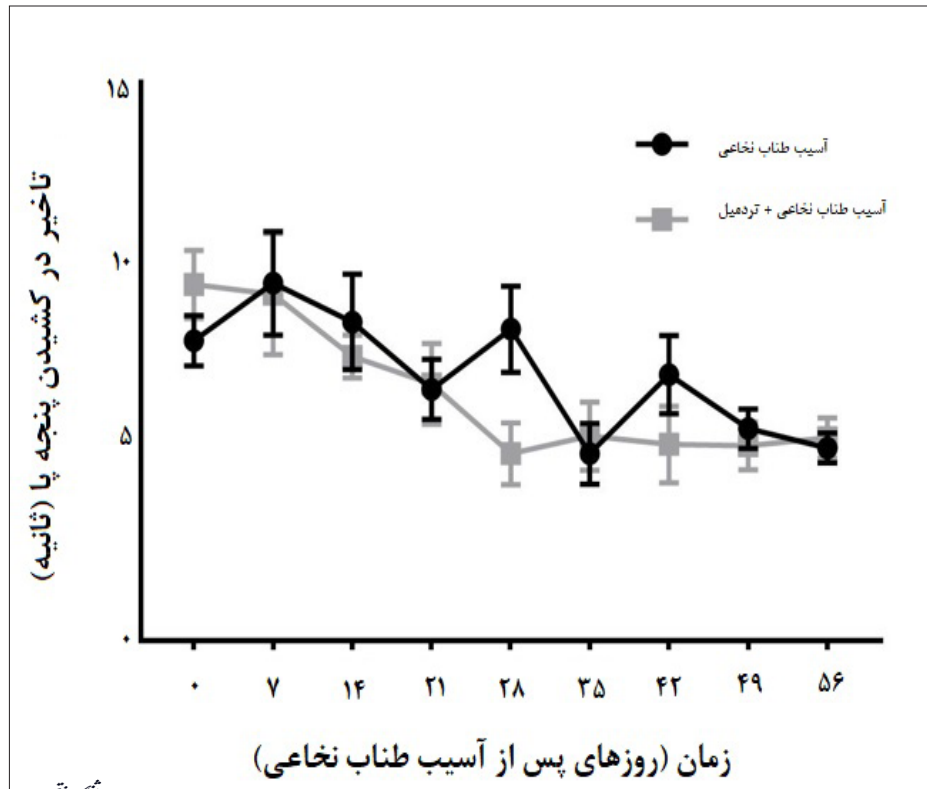
نتایج بررسی اثر دارو و تردمیل بر وضعیت وزن حیوان

به‌منظور تأثیر بازتوانی عصبی با تردمیل بر میزان تغییرات وزن بدن حیوان، به‌صورت دوره‌ای وزن حیوانات

جدول ۲- نتایج میانه (صدک ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر اثر درد حرارتی موش‌های صحرایی با آزمون صفحه داغ در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

صفحه داغ		SCI		SCI+TM	
میانه	۲۵ درصد	۷/۱۶	۵/۴۴	۵/۵	۵/۲۶
	۷۵ درصد		۸/۴۸		۸/۴۸
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۷/۱۶ $\pm$ ۰/۵۴		۶/۶۶ $\pm$ ۰/۶	

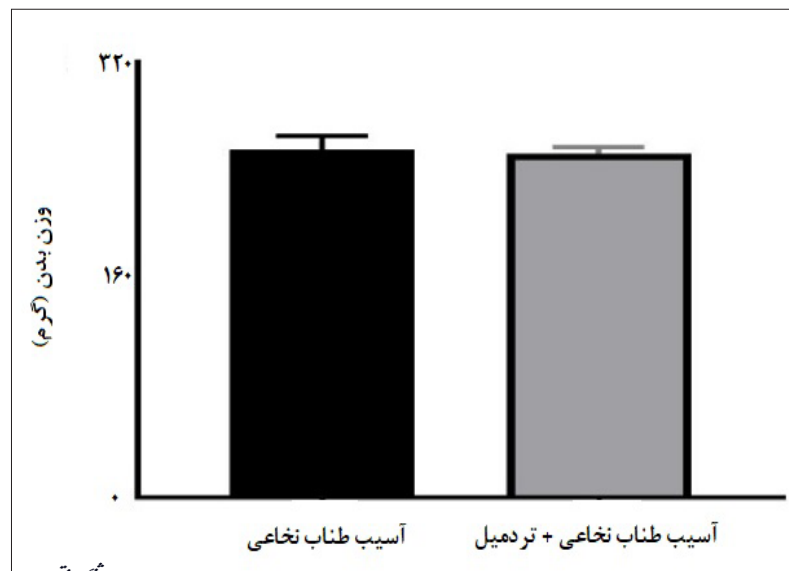
شماره



تصویر ۲- نمودار ارزیابی اثر درد حرارتی با استفاده از آزمون صفحه داغ. نمودار پاسخ رفتاری را در طول هشت هفته پس از آسیب طناب نخاعی بر درد و هیپرالژیای حرارتی نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه SCI و SCI+TM وجود ندارد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. تعداد نمونه‌ها برابر با ۸ سر موش در هر گروه است.

جدول ۳- نتایج میانه (صدک ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر تغییرات وزن موش‌های صحرایی در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

وزن		SCI		SCI+TM	
میانه	۲۵ درصد	۲۵۰	۲۴۸	۲۵۰	۲۵۰
	۷۵ درصد		۲۶۷		۲۵۸
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۲۵۵ $\pm$ ۶/۰۳		۲۵۳ $\pm$ ۲/۷۵	



تصویر ۳- تغییرات وزن حیوانات در بازه درمانی ۵۶ روزه. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که از نظر تغییرات وزنی اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نشده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. تعداد نمونه‌ها برابر با ۸ سر موش در هر گروه است.

هماتوکسیلین و ائوزین از مرکز ضایعه نخاعی در موش‌های گروه SCI و گروه SCI+TM در تصویر ۵ نشان داده شده است. آنالیز آماری نشان می‌دهد که در گروه درمانی SCI+TM در مقایسه با گروه SCI کاهش معنی داری در اندازه حفره ضایعه مشاهده می‌شود ($P < 0/05$) (جدول ۵، تصویر ۵).

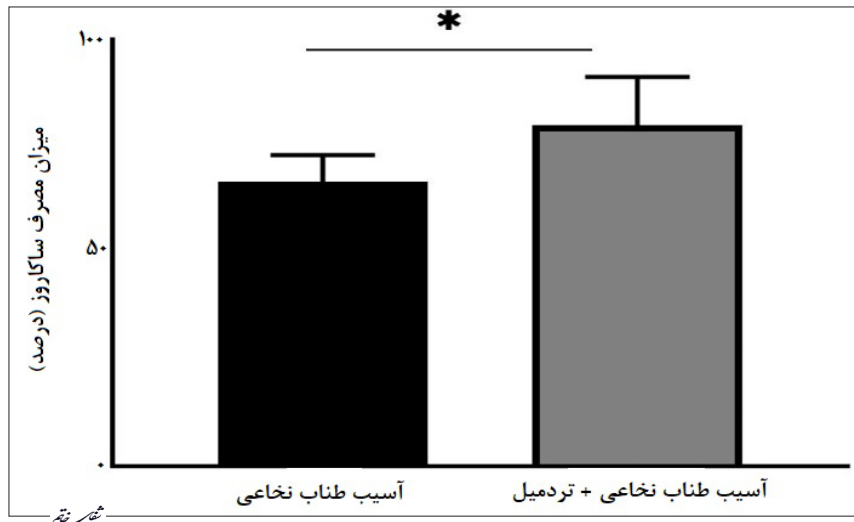
می‌دهد. که بیانگر میزان افسردگی و استرس در گروه SCI در مقایسه با گروه SCI+TM است (جدول ۴، تصویر ۴).

نتایج بررسی اندازه حفره ضایعه

نتایج بررسی اندازه حفره ضایعه با رنگ آمیزی

جدول ۴- نتایج میانه (صدک ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر تغییرات آزمون ترجیحی ساکاروز موش‌های صحرایی در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

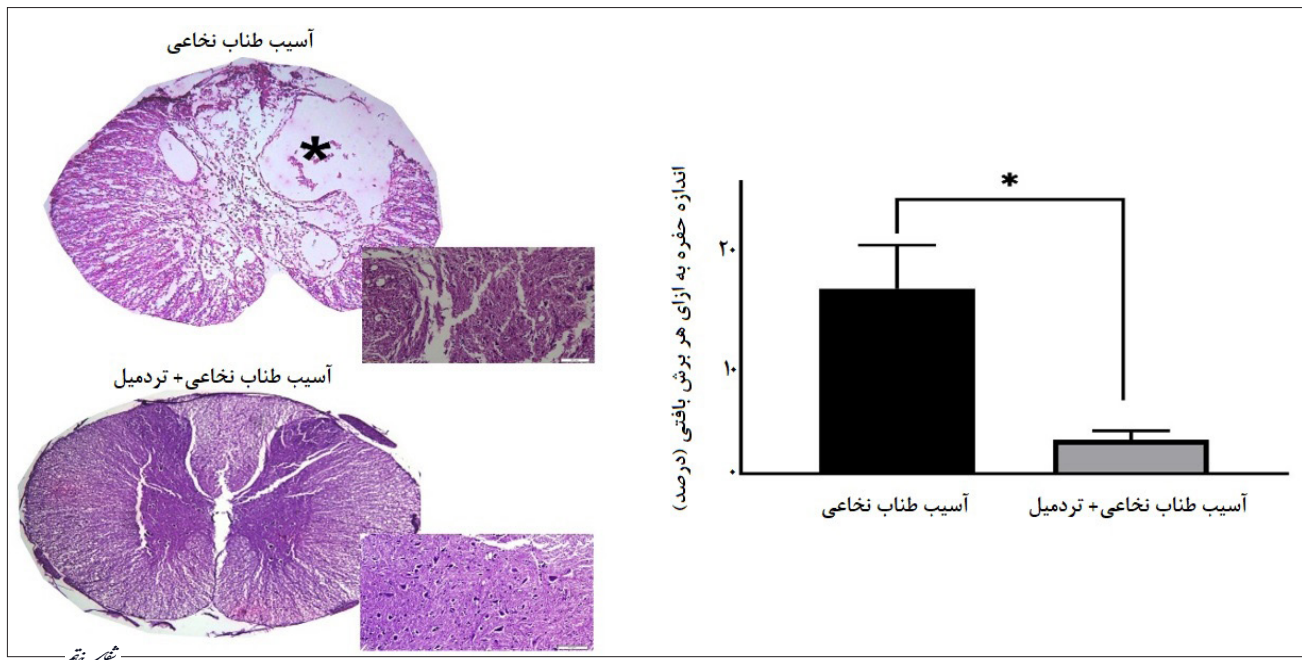
ساکارز		SCI		SCI+TM	
میانه	۲۵ درصد	۶۷/۹	۶۰/۲	۸۱/۵	۶۹
	۷۵ درصد		۷۱/۹		۸۹/۶
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۶۶/۷ $\pm$ ۳/۱۳		۸۰ $\pm$ ۵/۶۲	



تصویر ۴- نمودار میزان مصرف ساکاروز در طول ۵۶ روز در دو گروه SCI و SCI+TM نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که از نظر میزان مصرف ساکاروز در گروه SCI+TM به طور معنی‌داری در طول درمان افزایش پیدا کرده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. P-Value کمتر از ۰.۰۵ معنادار در نظر گرفته شد. تعداد نمونه‌ها برابر با ۸ سر موش در هر گروه است. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار $P < 0.05$ است.

جدول ۵- نتایج میانه (صدمه ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر تغییرات اندازه حفره ضایعه ایجاد شده در نخاع موش‌های صحرایی در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

سایز حفره		SCI		SCI+TM	
میانه	۲۵ درصد	۱۴	۱۱	۲/۹۳	۱/۳۷
	۷۵ درصد		۲۴/۴		۴/۶۸
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۱۶/۵ $\pm$ ۳/۸۶		۲/۹۹ $\pm$ ۰/۸۵	



تصویر ۵- رنگ‌آمیزی H&E پس از ۸ هفته بازتوانی عصبی-حرکتی. آنالیز آماری نشان می‌دهد که اندازه حفره در گروه SCI+TM در مقایسه با گروه SCI کاهش معنی‌داری داشته است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. P-Value کمتر از ۰.۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. تعداد نمونه‌ها برابر با ۴ سر موش در هر گروه است. * در شکل نشان‌دهنده سایز حفره ایجاد شده به دنبال ضایعه می‌باشد. * نشانگر $P < 0.05$ و ** نشانگر $P < 0.01$.

بحث و نتیجه گیری

آسیب طناب نخاعی (SCI) یک رویداد تغییر دهنده زندگی است که بر عملکرد حسی، حرکتی و خودمختار تأثیر می گذارد. متأسفانه، عوامل متعددی ترمیم نخاع آسیب دیده را محدود می کنند. در واقع، در حال حاضر هیچ درمان بالینی دردسترس برای ترویج بازسازی پس از SCI وجود ندارد. با این وجود، مطالعات متعدد نشان داده اند با تمرینات حرکتی توانبخشی می توان به درجه متوسطی از بهبود عملکردی دست یافت. به عنوان مثال: راه رفتن روی زمین، تمرین روی

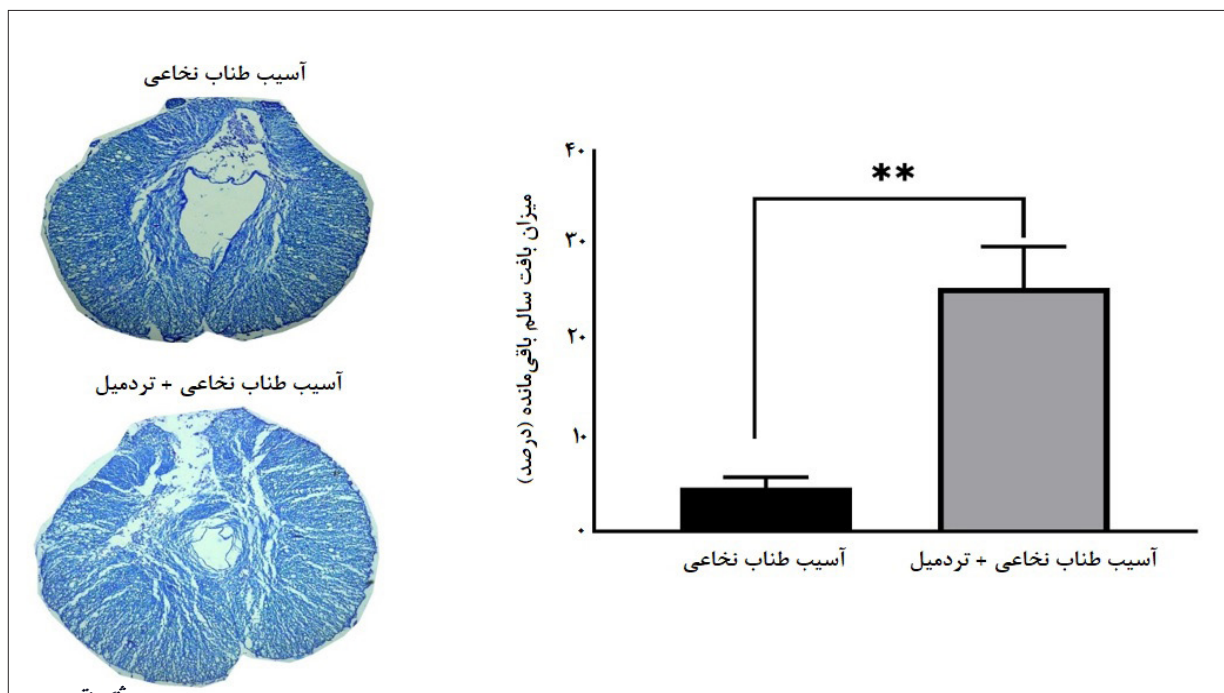
نتایج بررسی میلین سازی با رنگ آمیزی لوکسال فست بلو

اثر تمرین با تردمیل بر میزان ماده سفید باقی مانده بعد از SCI در دو گروه ارزیابی شد. رنگ آمیزی LFB برای رنگ آمیزی لیپیدهای میلین دار استفاده می شود. از دست دادن ماده سفید به وضوح در گروه SCI مشاهده شد. آنالیز آماری نشان می دهد نواحی ماده سفید باقی مانده در گروه SCI+ TM به طور معنی داری بیشتر از گروه SCI است (جدول ۶، تصویر ۶). داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است ($P < 0.05$).

جدول ۶- نتایج میانه (صدک ۲۵، ۷۵) و میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین از مقادیر تغییرات ترمیم بافتی پس از ایجاد ضایعه در نخاع موش های صحرایی در دو گروه SCI و SCI+TM نشان داده شده است.

ترمیم بافتی		SCI		SCI+TM	
میانه	۲۵ درصد	۵/۴۷	۲/۲۵	۲۶/۱	۱۷/۲
	۷۵ درصد		۶/۰۶		۳۳/۷
میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین		۴/۵۹ $\pm$ ۱/۱۱		۲۵/۷ $\pm$ ۴/۲۹	

شماره



تصویر ۶- رنگ آمیزی لوکسال فست بلو پس از ۸ هفته. آنالیز آماری نشان می دهد که در گروه SCI+TM در مقایسه با گروه SCI افزایش معنی داری در میلین سازی مشاهده می شود. داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است. P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. تعداد نمونه ها برابر با ۴ سر موش در هر گروه است. * نشانگر $P < 0.05$ و ** نشانگر $P < 0.01$.

را ارتقا دهد (۱۹). گرازیانو و همکاران نشان دادند که در حیواناتی که پس از قطع نخاع قفسه سینه تمرین دوچرخه سواری داشتند، تحریک لمسی پنجه عقبی ایجاد شد. چنین آموزشی همچنین سازماندهی مجدد قشر مغزی عصبی مربوط به اندام تحتانی را علیرغم قطع ورودی آوران از این اندام‌ها بهبود بخشید. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین با تردمیل می‌تواند رشد آکسونی و جوانه زدن جانبی نزدیک به تنه (پروگزیمال) ضایعه و استقرار سیناپسی را افزایش دهد (۲۰، ۲۱).

علیرغم موفقیت چشمگیر تمرین‌های حرکتی به‌منظور بازتوانی عصبی - حرکتی پس از آسیب به سیستم عصبی مرکزی (CNS)، دانش ما در مورد چگونگی ترجمه این روش درمانی به بهبودی محدود است. یکی از دلایل این است که اگرچه آموزش توانبخشی یک روش استاندارد در محیط بالینی است، اما کاربرد آن در SCI تجربی (مثلاً مطالعات حیوانی پیش بالینی) نادر است. این امر سه مشکل را ایجاد می‌کند: اول، درک ما از اینکه چگونه آموزش باعث بهبودی می‌شود محدود است. دوم، پروتکل‌های آموزشی بهینه ناشناخته هستند. و در نهایت، ما فاقد بینش در مورد تعامل بین آموزش و سایر درمان‌ها (به‌عنوان مثال، فارماکولوژیک) در توسعه پیش بالینی هستیم. علاوه بر این، شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد بازتوانی عصبی - حرکتی ممکن است برای درمان‌های تحریک‌کننده نوروپلاستیسته برای فعال کردن بهبودی ضروری باشد (۲۲). همچنین برای اهداف خاص، بازتوانی می‌تواند شکل‌پذیری‌های ناسازگار مثل گرفتگی عضلانی، دیس فلکسی اتونوم و یا درد را کاهش دهد (۶). بنابراین، گنجاندن تمرین‌های بازتوانی در مدل‌های حیوانی پیش بالینی SCI برای درک اثرات هر درمان جدید در یک سلسله رویداد بالینی مرتبط حیاتی است. فرایند دیگری که به طور بالقوه به پوشش مجدد عملکردی بعد از SCI کمک می‌کند، میلین سازی مجدد آکسون‌هایی است که در طول فرایند آسیب از غلاف میلین خود خارج شده‌اند. تخریب غلاف میلین ادغام صحیح اطلاعات عصبی را مختل می‌کند، در حالی که میلین سازی مجدد آکسون‌های ذخیره شده می‌تواند انتقال مناسب و فعالیت عصبی را بازیابی کند، در نتیجه بهبود عملکردی را ارتقا می‌دهد (۶).

به طور خلاصه، بر اساس این مطالعه و پژوهش‌های مشابه، تمرین‌های بازتوانی، ترمیم بافت عصبی، انعطاف‌پذیری و میلین شدن مجدد را افزایش می‌دهد و به بازسازی مجدد مسیرهای عصبی به شیوه ای کاربردی کمک می‌کند.

تردمیل و تمرین راه رفتن به کمک ربات می‌تواند باعث بهبودی در افراد مبتلا به SCI شود (۱۶).

در این مطالعه برای اعمال ضربه به نخاع از مدل له‌شدگی (کوفتگی) آسیب طناب نخاعی استفاده شد که یکی از مدل‌های شناخته شده حیوانی است و با تغییرات پاتولوژیک مشابه آسیب‌های کلینیکی وارد شده به نخاع همراه می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ترمیمی بازتوانی عصبی بر روی عملکرد حرکتی و رویکرد بازسازی بافت آسیب‌دیده انجام گرفته است. زمان گسترش آسیب بافتی بعد از ضربه به نخاع در طراحی روش‌های درمانی نوین یک عامل اساسی به شمار می‌رود. بنابراین به نظر می‌رسد انتخاب راهکار درمانی باتوجه به مکانیسم‌های ثانویه شناخته شده آسیب طناب نخاعی بایستی به نحوی باشد که فاز اولیه آسیب را تا حد ممکن محدود کند (۱۷). اعمال درمان‌های ذکر شده فوق هیچ گونه تاثیری در بهبود عملکرد حسی حیوانات با ضایعه نخاعی نداشت. گروه درمان با بازتوانی عصبی افزایش معنی‌داری در آزمایش ساکاروز نسبت به گروه شم نشان داد. در بررسی بافت شناسی، اندازه حفره ضایعه نخاعی پس از ضربه در گروه درمان نسبت به گروه شم کاهش معنی‌داری را نشان داد. میلین سازی پس از بازتوانی در گروه درمان نسبت به گروه شم افزایش معنی‌داری داشته است.

مطالعات نشان داده‌اند بازتوانی عصبی - حرکتی سبب محافظت از عملکرد نورون‌های حرکتی دور از تنه (دیس‌تال) آسیب دیده در سطوح مختلف می‌شود و در نتیجه بهبود عملکرد را به دنبال دارد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند تغییراتی را در مدار عصبی موضعی ایجاد کند که نشان می‌دهد فعالیت رشته‌های عصبی آوران می‌تواند سلول‌های قشر مغز را فعال کرده و بازسازی عملکرد عصبی را تقویت کند. تحقیقات در مورد سازماندهی مجدد قشر مغز پس از آسیب عصب محیطی نشان دهنده انعطاف‌پذیری قشر مغز می‌باشد. ثبت نوار مغزی (EEG) تغییرات بیشتری را در ناحیه حسی - حرکتی قشر مغز تایید کرده است. در مقایسه با افراد سالم، ناحیه قشر حسی - حرکتی مرتبط با بافت عضلانی بالای ناحیه آسیب دیده در بیماران SCI به طور جبرانی گسترش یافته است (۱۸).

مطالعات تایید کرده‌اند که در حیوانات با تمرینات ورزشی غیرفعال پس از آسیب قطع نخاع، فاکتور نوروتروفیک مربوط به پلاستیسیته، و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در قشر حسی تنی افزایش می‌یابد، مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی می‌تواند با القای بیان BDNF، بازسازی عملکرد مغز

1. Ehrmann C, Mahmoudi SM, Proding B, Kiekens C, Ertzgaard P. Impact of spasticity on functioning in spinal cord injury: an application of graphical modelling. *Journal of Rehabilitation Medicine*. 2020;52(3).
2. Ashammakhi N, Kim H-J, Ehsanipour A, Bierman RD, Kaarela O, Xue C, et al. Regenerative therapies for spinal cord injury. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2019;25(6): 471-91.
3. Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic spinal cord injury: an overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms. *Frontiers in neurology*. 2019; 10: 282.
4. Rowald A, Komi S, Demesmaeker R, Baaklini E, Hernandez-Charpak SD, Paoles E, et al. Activity-dependent spinal cord neuromodulation rapidly restores trunk and leg motor functions after complete paralysis. *Nature medicine*. 2022; 28(2): 260-71.
5. Karsy M, Hawryluk G. Modern medical management of spinal cord injury. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2019; 19: 1-7.
6. Fu J, Wang H, Deng L, Li J. Exercise training promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neural plasticity*. 2016; 2016.
7. Rayegani SM, Shojae H, Sedighpour L, Soroush MR, Baghbani M, Amirani OoB. The effect of electrical passive cycling on spasticity in war veterans with spinal cord injury. *Frontiers in neurology*. 2: 39; 2011.
8. Torres-Espín A, Beaudry E, Fenrich K, Fouad K. Rehabilitative training in animal models of spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2018;35(16):1970-85.
9. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *Journal of neurotrauma*. 1995;12(1):1-21.
10. Ahmed RU, Alam M, Zheng Y-P. Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats. *Heliyon*. 2019; 5 (3).
11. Batista CM, Mariano ED, Dale CS, Cristante AF, Britto LR, Otoch JP, et al. Pain inhibition through transplantation of fetal neuronal progenitors into the injured spinal cord in rats. *Neural regeneration research*. 2019;14(11):2011.
12. Markov DD. Sucrose preference test as a measure of anhedonic behavior in a chronic unpredictable mild stress model of depression: Outstanding issues. *Brain Sciences*. 2022;12(10):1287.
13. Liu C-H, Zhao B-L, Li W-T, Zhou X-H, Jin Z, An L-B. Effects of body weight-supported treadmill training at different speeds on the motor function and depressive behaviors after spinal cord injury in rats. *NeuroReport*. 2020;31(18):1265-73.
14. Hashemizadeh S, Gharaylou Z, Hosseindoost S, Sardari M, Omidi A, Ravandi HH, Hadjighassem M. Long-term administration of bumetanide improve functional recovery after spinal cord injury in rats. *Frontiers in pharmacology*. 2022;13:932487.
15. Gilat E, Kadar T, Levy A, Rabinovitz I, Cohen G, Kapon Y, et al. Anticonvulsant treatment of sarin-induced seizures with nasal midazolam: an electrographic, behavioral, and histological study in freely moving rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 2005;209(1):74-85.
16. Askari S, Chao T, Conn L, Partida E, Lazzaretto T, See P, et al., editors. Effect of functional electrical stimulation (FES) combined with robotically assisted treadmill training on the EMG profile. 2011 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society; 2011: IEEE.
17. Dorrian RM, Berryman CF, Lauto A, Leonard AV. Electrical stimulation for the treatment of spinal cord injuries: A review of the cellular and molecular mechanisms that drive functional improvements. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2023;17:1095259.
18. Curt A, Alkadhi H, Crelier GR, Boendermaker SH, Hepp-Reymond MC, Kollias SS. Changes of non-affected upper limb cortical representation in paraplegic patients as assessed by fMRI. *Brain*. 2002; 125(11): 2567-78.
19. Graziano A, Foffani G, Knudsen EB, Shumsky J, Moxon KA. Passive exercise of the hind limbs after complete thoracic transection of the spinal cord promotes cortical reorganization. *PLoS One*. 2013; 8(1): e54350.
20. Deng L-X, Deng P, Ruan Y, Xu ZC, Liu N-K, Wen X, et al. A novel growth-promoting pathway formed by GDNF-overexpressing Schwann cells promotes propriospinal axonal regeneration, synapse formation, and partial recovery of function after spinal cord injury. *Journal of Neuroscience*. 2013; 33(13): 5655-67.
21. Gardiner P, Dai Y, Heckman CJ. Effects of exercise training on α -motoneurons. *Journal of applied physiology*. 2006;101(4): 12, 28-36.
22. Côté M-P, Azzam GA, Lemay MA, Zhukareva V, Houllé JD. Activity-dependent increase in neurotrophic factors is associated with an enhanced modulation of spinal reflexes after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2011; 28(2): 299-309.